

古典的1週間グリコーゲンローディング処方 はファットローディング効果を併せもつ

The classic one week glycogen-loading regimen additionally chances the fat-loading to skeletal muscles

篠原 暁子 (Akiko Shinohara) 指導：福林 徹

【研究の背景】

糖質と脂質はエネルギー源として重要である。糖質を分解して得られたグリコーゲンを食事と運動を組み合わせることで、より多く獲得・利用しようとする研究の代表的なものに、古典的1週間グリコーゲンローディング法がある。この方法は、通常レベル以上のグリコーゲンを蓄積させるために、運動によりグリコーゲンを一度枯渇させたあと、高炭水化物食を摂取するものである。そして、より多くのグリコーゲンの蓄積は、パワー・スピードなどの運動パフォーマンスを向上させ、特に持久性の運動パフォーマンスを向上させる効果がある。

一方、脂質が持久性の運動パフォーマンスを向上させ、持久性の運動のエネルギー源として重要であるとの報告もある。特に、エネルギー源として直接利用される骨格筋細胞内に蓄積されたトリグリセリドは、脂肪滴としてミトコンドリアに近接して貯蔵され、脂質酸化によるエネルギー源の約10～50%を担うことから、骨格筋細胞内脂肪は脂肪の中でも中心的なエネルギー源としての役割を果たしている。

このように、エネルギー源としてのグリコーゲンを骨格筋細胞内に蓄積させるためにグリコーゲンローディング処方の研究がなされているようであるが、骨格筋細胞内の脂肪もエネルギー源として重要な役割を果たしていることから、脂肪を効率的に骨格筋細胞内に取り込む方法が明らかになり、両者をバランスよく細胞内に貯蔵することができれば有用な知見となろう。

【研究の目的】

そこで、本研究では、古典的1週間グリコーゲンローディング処方がグリコーゲンローディング効果だけでなく、エネルギー源となる脂肪も併せて蓄積させるファットローディング効果も併せもつかを組織化学的分析方法により定性的かつ定量的に明らかにすることを目的とした。

本研究の目的を達成するために、研究課題を設定し、以下の知見を得られた。

<研究課題1>

1. 目的

健康な成人男性を被験者として、古典的1週間グリコーゲンローディング処方において高脂肪食3日間－高炭水化物食3日間摂取後の運動中に骨格筋細胞内脂肪が高率で利

用される可能性について検討する。

2. 実験方法

被験者は成人男性6名。方法は、古典的1週間グリコーゲンローディング処方を施した（高脂肪食－高炭水化物食、以下A群）群と6日間高炭水化物食を食事させる（高炭水化物食-高炭水化物食、以下B群）群の2群を設定した。それぞれの摂食処方は2週間から2ヶ月の間においてランダムにクロスオーバーテストを行った。

1日目に骨格筋内グリコーゲンを枯渇させるための運動を負荷し、そして7日目に自転車エルゴメータによる運動試験（50% $\text{VO}_{2\text{peak}}$, 60分）を実施した。脂肪細胞からの脂肪酸動員を抑制して骨格筋細胞内脂肪を供給させるために、7日目の運動開始1時間前と30分前に体重当たり0.5g相当の5%グルコース溶液（0.5g / 体重kg）を摂取した。そして、運動開始60分前、運動開始直前、運動開始後30分、終了直後、および運動終了30分後に採血を行ない、呼気ガス測定を運動直前と運動中4回の計5回行なった。骨格筋細胞内脂肪の利用可能性の有無は、血清グルコース濃度、血清遊離脂肪酸濃度、および呼吸交換比率からの代謝のパターンで判断した。

3. 結果

血清グルコース濃度、および血清遊離脂肪酸濃度でA群とB群間に差が見られなかった。また、呼吸交換比率がA群は脂質代謝に近い結果を得られた。このことは、脂肪をエネルギー源として利用する比率が高くなっていることを意味すると考えられることから、骨格筋細胞内脂肪が高率で利用された可能性が示唆された。

<研究課題2>

1. 目的

骨格筋細胞内にグリコーゲンおよび脂肪がどのくらい蓄積されているのか、また、蓄積されているとしたらどのように蓄積されているのかを明らかにするために、ラットの尺側手根伸筋を用いて組織化学的にグリコーゲンローディング処方のファットローディング効果を究明する。

2. 実験方法

対象は6週齢Wistar系雄ラット36匹。方法は、ラットを水中浴で十分に疲労困憊させ、骨格筋内のグリコーゲンの備蓄を最小限にしてから、古典的1週間グリコーゲンロー

ディング処方を実施したA群と6日間高炭水化物食を食餌させるB群に分け、ラットから得られた尺側手根伸筋の切片を作成し、光学顕微鏡および蛍光顕微鏡を使用した組織化学的手法を用いて、骨格筋細胞内のグリコーゲン顆粒(PAS染色法)と脂肪滴(Oil red O染色法)の蓄積分布と含量の経日変動を比較・検討した。

3. 結果

グリコーゲン顆粒は染色濃度に相違はあるがすべての骨格筋細胞が染色されていた。一方、脂肪滴は骨格筋細胞内に脂肪滴が蓄積されている細胞と蓄積されていない細胞がみられた。蓄積された脂肪滴については、多くが骨格筋細胞膜に隣接し、細胞を縁取るように貯蔵されていた。

また、骨格筋細胞内の含量について、A群は、1日目の疲労困憊運動負荷後、3日間高脂肪食を摂取したにもかかわらず、骨格筋細胞内グリコーゲン含量が運動前のレベル(4日目)もしくはそれ以上のレベル(7日目)に回復しつつ、骨格筋細胞内脂肪含量は疲労困憊運動負荷前(1日目)のレベルを維持し、さらにA群がB群に比べ有意($p<0.01$)に上回っていた。一方、B群では、骨格筋細胞内グリコーゲン含量こそA群に比べ4日目に高い値($p<0.01$)を示したが、7日目には4日目と同じレベルに留まった。

以上のことから、古典的1週間グリコーゲンローディング処方は、尺側手根伸筋に対してグリコーゲンローディング効果だけでなく、ファットローディング効果を併せ持つことが示唆された。

<研究課題3>

1. 目的

古典的1週間グリコーゲンローディング処方を行なった時のファットローディング効果は、疲労困憊に至らない運動を負荷においても認められるかを検討する。

2. 実験方法

対象は6週齢Wistar系雄ラット36匹。方法は、研究課題2と比べ、実験1日目の運動の負荷を軽減した条件設定のもと、研究課題2と同様の方法を用い、尺側手根伸筋の代わりに下肢のヒラメ筋を対象として、骨格筋内のグリコーゲンと脂肪滴の蓄積分布と含量の経日変動を比較・検討した。

3. 結果

グリコーゲン顆粒は染色濃度に相違はあるがすべての骨格筋細胞が染色されていた。一方、脂肪滴は骨格筋細胞内に脂肪滴が蓄積されている細胞と蓄積されていない細胞がみられた。蓄積された脂肪滴については、多くが骨格筋細胞膜に隣接し、細胞を縁取るように貯蔵されていた。

また、骨格筋細胞内の含量について、A群は、1日目の運動負荷後、3日間高脂肪食を摂取したにもかかわらず、骨格筋細胞内グリコーゲン含量が運動前のレベル(4日目)

もしくはそれ以上のレベル(7日目)に回復しつつ、骨格筋細胞内脂肪含量は運動負荷前(1日目)のレベルを大きく上回り($p<0.01$)、さらに7日目でもその量は減少しながらも運動負荷前のレベルを維持していた。そして、7日目にはA群はB群に比べ有意($p<0.01$)に上回っていた。一方、B群では、骨格筋細胞内グリコーゲン含量こそA群に比べ4日目に高い値($p<0.01$)を示したが、7日目には4日目と同じレベルに留まった。

以上のことから、古典的1週間グリコーゲンローディング処方は、ヒラメ筋に対してグリコーゲンローディング効果だけでなく、ファットローディング効果を併せ持つことが示唆された。

【結論】

以上の研究課題を究明した結果、以下の知見を得られた。

骨格筋細胞内グリコーゲンの消費もしくは枯渇を目的とした運動の後、骨格筋細胞内のグリコーゲン顆粒だけでなく脂肪滴も減少した。そして、運動後の高脂肪食を中心とした食餌により、脂肪滴が多量に蓄積されただけでなく、骨格筋細胞内のグリコーゲン顆粒も増加し、運動前レベルもしくはそれ以上に回復した。

また、この現象は、研究課題2および研究課題3で用いた尺側手根伸筋とヒラメ筋において、含量の変動レベルに相違はあるものの、その増加減少の位相パターンは同じ傾向を示した。

このことは、古典的1週間グリコーゲンローディング処方は、従来言われていたような骨格筋細胞内のグリコーゲンを増加させるグリコーゲンローディング効果だけでなく、骨格筋細胞内の脂肪も増加させるファットローディング効果も併せもつことが示唆された。

本研究では、骨格筋細胞内のグリコーゲンおよび脂肪の蓄積に関する基礎的知見を得た。

しかしながら、食事に含まれる糖質や脂質の成分および量により体内への取り込みが異なり、また、筋線維の差異により、処方による効果や貯蔵量の変動もあることから、今後はそれらについても詳細な検討が必要であろう。さらに、糖新生や脂肪滴産生を定量的に評価し、骨格筋細胞内のより詳細な貯蔵状態を明らかにするためには、分子生物学的手法を用いる必要があろう。これらの代謝メカニズムは多彩であり、この現象の発生機序は不明である。骨格筋細胞内脂肪がミトコンドリアに近接して存在し、その取り込み過程において利用される酵素の重要性も指摘されている。今後これらの酵素の影響も検討できれば、より高率なファットローディングのメカニズムが解明されると期待する。